复合酶制剂对泌乳奶牛瘤胃发酵、营养物质表观消化率及生产性能的影响

林 静[1,2] 赵鑫源[2] 都 文[2] 王雅晶[2] 曹志军[2] 李胜利[2*] 余 雄[1*]

（1.新疆农业大学动物科学学院，乌鲁木齐 830052；2.中国农业大学动物科学技术学院，动物营养学国家重点实验室，北京市生鲜乳质量安全工程技术研究中心，北京 100193）

摘 要：本试验旨在研究饲粮中添加不同剂量的复合酶制剂对泌乳奶牛瘤胃发酵、营养物质表观消化率、血清指标及生产性能的影响。选择体重、胎次[（2.30±0.06）胎]、产奶量[（37.00±0.03）kg/d]、泌乳天数[（90±0.15） d]相近的 9 头泌乳期荷斯坦奶牛，随机分成 3 组，每组 3 头。采用 3×3 拉丁方设计，对照组饲喂基础饲粮，试验组I和试验组II分别在基础饲粮基础上添加 10 和 20 g/（头 d）的复合酶制剂，进行 3 期动物试验。每期 21 d，其中 14 d 为预试期，7 d 为采样期。结果表明：1）饲粮中添加 10 g/（头 d）的复合酶制剂显著提高奶牛瘤胃液中丁酸的浓度（$P<0.05$），而对总挥发性脂肪酸和其他挥发性脂肪酸的浓度无显著影响（$P>0.05$）；2）与对照组相比，饲粮中添加 10 g/（头 d）的复合酶制剂显著提高奶牛对干物质、粗蛋白质和中性洗涤纤维的表观消化率（$P<0.05$），对酸性洗涤纤维的表观消化率也有一定的提高作用（$P=0.06$）；3）饲粮中添加 10 和 20 g/（头 d）的复合酶制剂显著提高了奶牛的产奶量（$P<0.05$），且 10 g/（头 d）组的 4%校正乳产量（4%FCM）、乳脂产量和乳糖产量分别较对照组提高 4.85($P<0.05$)、0.49($P<0.05$)和 0.32 kg/d（$P<0.05$）；4）复合酶制剂的添加未对奶牛血清指标产生显著影响（$P>0.05$）。综上，饲粮中添加 10 g/（头 d）复合酶制剂能够显著提高泌乳奶牛的产奶量、乳脂产量和瘤胃液丁酸浓度，且饲喂效果优于

收稿日期：2017-01-05
资助项目：现代农业（奶牛）产业技术体系建设专项（CARS-37）；国家自然科学基金青年基金项目（31402099）；湖南省重点研发计划农业领域技术创新项目（2016NK2074）
作者简介：林 静（1989-），女，新疆库尔勒人，硕士研究生，从事反刍动物营养与饲料研究。E-mail: 1633080081@qq.com
*通信作者：李胜利，教授，博士生导师，E-mail: lishenglicau@163.com；余 雄，教授，博士生导师，E-mail: yuxiong8763601@126.com

添加量为20 g/(头 d)时。综合考虑，泌乳奶牛饲粮中复合酶制剂的推荐添加量为10 g/(头 d)。

关键词：复合酶制剂；泌乳奶牛；瘤胃发酵；营养物质表观消化率；生产性能

中文图分类号：S816　　文献标识码：A　　文章编号：

饲用酶制剂主要分为单一酶制剂和复合酶制剂，复合酶制剂中存在多种酶，以一种或者多种单一酶制剂为主体，与其他酶制剂混合而成。在当前“健康、优质、高效、环保”的养殖环境下，饲用酶制剂已作为一种无毒副作用的绿色新型添加剂应用于畜牧业配合饲料中。外源酶制剂最初应用于猪、鸡等单胃动物时，可提高动物对饲料养分的消化和生产性能，作用机理也较为清楚[1-4]。而外源酶制剂在反刍动物营养领域的应用研究起步相对比较晚，起初部分学者认外反刍动物自身合成的酶已经足够消化纤维饲料，加之外源酶制剂在反刍动物瘤胃内会受蛋白质分解菌的破坏而失活，故认为外源酶制剂应用于反刍动物是没有必要的。最近研究结果证实，外源酶制剂能够在瘤胃中稳定存在，这再次引起了研究人员在反刍动物饲粮中添加外源酶的兴趣。

研究表明，在反刍动物饲粮中添加一定比例的以纤维素酶和木聚糖酶为主的复合酶制剂能破坏植物细胞壁、消除抗营养因子、补充动物内源酶的不足，改善动物对养分的消化，从而提高动物的生产性能[5]。然而，复合酶制剂的使用效果与酶制剂的种类、添加方式、饲粮组成、动物所处的生理状态等因素有关，导致其作用效果往往很不稳定[6-9]。近年来，随着生物技术的不断提高和完善，外源复合酶制剂在反刍动物中的应用越来越广泛。鉴于复合酶制剂应用于反刍动物的生产实践的效果具有一定的变异性，且其作用机理尚不是很清楚。本试验在全混合日粮（TMR）中添加以纤维素酶、木聚糖酶和葡聚糖酶为主的外源复合酶制剂，研究其对泌乳奶牛瘤胃发酵、营养物质表观消化率、血清指标和生产性能的具体影响，扩充复合酶制剂应用效果的数据资料，以期为复合酶制剂的合理使用及其作用机理的研究提供参考。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验所用反刍动物专用复合酶制剂由湖南尤特尔生化有限公司提供，主要成分如下：纤

维素酶 3 000 U/g，木聚糖酶 10 000 U/g，β-葡聚糖酶 5 000 U/g，果胶酶 1 000 U/g。

1.2　试验设计

选择体重、胎次[（2.30±0.06）胎）]、产奶量[（37.00±0.03）kg/d]、泌乳天数[（90.00±0.15）d]相近的 9 头荷斯坦奶牛，随机分成 3 组，随机分成 3 组，每组 3 头。采用 3×3 拉丁方设计，对照组饲喂基础饲粮，试验组I和试验组II分别在基础饲粮基础上添加 10 和 20 g/（头 d）的复合酶制剂，进行 3 期动物试验。每期 21 d，其中 14 d 为预试期，7 d 为采样期。试验全期采用 TMR 饲喂，每天 2 次，分别在 8:00 和 14:00 时饲喂，且在每天 08:00 将提前称量好的不同剂量复合酶制剂撒在对应组 TMR 中，混合均匀后饲喂给试验奶牛。整个试验期间通过自动采食槽系统（roughage intake control system，RIC，荷兰）记录试验奶牛的采食量及剩料量。奶牛日机械挤奶 3 次（05:30、14:00 和 20:00），散栏饲养，自由饮水。每天按时观察并作好奶牛的采食、反刍、粪尿、乳房炎以及蹄病发病情况的记录。

1.3　试验饲粮

本试验选在北京市顺义区中地良种奶牛科技园进行。以玉米、玉米青贮、苜蓿等为主要原料配制的 TMR 作为基础饲粮，基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet　%

项目 Items	含量 Content
原料(风干基础) Ingredients (air-dry basis）	
玉米青贮 Corn silage	18.00
进口苜蓿 Imported alfalfa	10.00
国产苜蓿 Domestic alfalfa	5.00
燕麦草 Oat grass	3.08

羊草 Chinese wildrye	2.00
玉米 Corn	16.99
小麦 Wheat grain	2.55
膨化大豆 Extruded soybean	4.00
豆粕 Soybean meal	10.00
糖蜜 Molasses	1.25
蒸汽压片玉米 Steam-flaked corn	14.73
棉籽 Cottonseed	4.65
大豆皮 Soybean hulls	3.42
过瘤胃脂肪酸 Rumen-pass fatty acid[1)]	1.00
酵母培养物 Yeast culture	0.47
防霉剂 Mycotoxin removement agent[2)]	0.03
食盐 NaCl	0.38
石粉 Limestone	0.39
小苏打 $NaHCO_3$	0.91
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.52
维生素与矿物质预混料 Mineral-vitamin premix[3)]	0.47
氧化镁 MgO	0.16
合计 Total	100.00
营养水平(干物质基础) Nutrient levels （DM basis）[4)]	
产奶净能 NE_L/(MJ/kg)	7.02
粗蛋白质 CP	16.34

中性洗涤纤维 NDF	28.28
酸性洗涤纤维 ADF	18.22
粗脂肪 EE	5.09
粗灰分 Ash	7.45
钙 Ca	0.86
磷 P	0.42

1) 过瘤胃脂肪酸购自德国百事美公司 Rumen-pass fatty acid brought from Berg-Schmidt Co., Germany.

2) 防霉剂购自奥地利百奥明公司。Mycotoxin removement agent brought from Biomin Co., Austria.

3) 维生素与矿物质预混料可为每千克饲粮提供Mineral-vitamin premix provided the following per kg of the diet：VA 1 000 000 IU，VD_3 280 000 IU，VE 10 000 IU，烟酸 nicotinic acid 1 000 mg，Cu 3 250 mg，Mn 4 800 mg，Zn 12 850 mg，I 140 mg，Se 150 mg，Co 110 mg。

4) 除泌乳净能为计算值[泌乳净能(MJ/kg)=0.055 1×消化能(MJ/kg)-0.094 6]外，其他营养水平均为实测值。NE_L was a calculated value [NE_L (MJ/kg)=0.055 1×DE (MJ/kg)-0.094 6], while other nutrient levels were measured values.

1.4 样品采集及检测指标

1.4.1 饲料样品的采集及分析

每天利用自动采食槽监控系统记录每头奶牛的采食量和剩料量，用于计算试验奶牛的干物质采食量（DMI）。每周采集 1 次饲料样品，所得饲料样品于 65 ℃烘箱烘干，回潮，制备成风干样品，粉碎后保存待测。根据张丽英[10]所描述的方法首先测定饲料样品的干物质(DM)，然后在 DM 基础上测定饲料样品的粗蛋白质（CP）、粗脂肪（EE）、粗灰分（Ash）、中性洗涤纤维（NDF）、酸性洗涤纤维（ADF）、钙（Ca）和磷（P）的含量。同时测定酸不溶灰分（AIA）含量，用于营养物质表观消化率的计算。

1.4.2　产奶量和乳成分测定

试验采样期内每天记录每头牛的产奶量，并计算 4%校正乳产量（4%FCM）。于每期试验采样期的第 1 天和第 2 天连续 2 d 收集试验奶样，早、中、晚奶样按 4:3:3 混合成 50 mL 后加入重铬酸钾防腐剂，样品及时送至北京奶牛中心使用多功能乳成分分析仪（MilkoScan 605,Foss Electric,Hillerod,丹麦）进行检测，检测指标包括乳脂率、乳蛋白率、乳糖率、体细胞数以及乳尿素氮含量。

1.4.3　瘤胃液的采集及相关指标测定

每期试验采样期的第3天和第4天，于晨饲（08:00）后采用口腔导管法每隔2 h（即晨饲后0、2、4、6、8 h）收集瘤胃内容物50 mL。4层纱布过滤后，立即用pH计测定其pH，然后在1 500 ×*g*离心力下离心15 min，收集上清液，分装于2个塑料瓶中，-20 ℃冷冻保存，用于测定瘤胃液中氨态氮（NH_3-N）和挥发性脂肪酸（VFA）的浓度。NH_3-N的浓度采用苯酚-次氯酸钠比色法在紫外分光光度计（UV-2600型，尤尼柯（上海）仪器有限公司）上测定，VFA的浓度应用气相色谱仪（Agilent 6890N，北京北分天普仪器技术有限公司）测定。

1.4.4　血样的采集及相关指标测定

每期试验采样期的第 7 天，于晨饲前利用真空普通采血管（购自山东奥赛特医疗器械有限公司）尾静脉采集所有试验牛的血液 10 mL。将采集的血样立刻放入离心机中，在 1 500 ×*g* 离心力下离心 15 min，吸取上清液分装到 1.5 mL 离心管中，置于-20 ℃保存。血清样本送至北京莱博泰瑞科技发展有限公司采用比色法测定血清中葡萄糖（glucose，GLU）、甘油三酯（triglyceride，TG）、总胆固醇（total cholesterol，TC）、游离脂肪酸（free fatty acid，FFA）、β-羟丁酸(β-hydroxybutyric acid，BHBA)、尿素氮（urea nitrogen，UN）、总蛋白(total protein，TP)和白蛋白(albumin，ALB)的含量。

1.4.5　粪样的收集与分析

于每期试验采样期的第 5～7 天，采用直肠取粪法连续收集粪样 12 次，每头牛每次收集粪样 300～500 g，采样时间点分别为第 5 天的 04:00、09:00、14:00 和 19:00 时，第 6 天的

05:00、10:00、15:00 和 20:00 时，第 7 天的 06:00、11:00、17:00 和 22:00。最后 1 天采样结束后将每头牛的粪样均匀混合后取 200 g 左右，按照 1/4 粪重加入 10%的酒石酸，再次混匀烘干制备成风干样，用于测定粪中营养物质和 AIA 的含量，然后根据粪和饲料中 AIA 的含量来计算营养物质的表观消化率，计算公式参照 Zhong 等[11]的文献，具体如下：

营养物质的表观消化率=$[1-(A_d \times N_f)/(A_f \times N_d)] \times 100$。

式中：A_d(g/kg)和 A_f(g/kg)分别指饲粮和粪中的 AIA 含量；N_d(g/kg)和 N_f(g/kg)分别指饲粮和粪中对应的某营养物质含量。

1.5 数据统计与分析

试验数据先在 Excel 2007 进行初步的整理，采用 SPSS 19.0 中 ANOVA 模型进行分析，应用 Duncan 氏法进行多重比较，显著性水平定为 $P<0.05$，试验数据结果表示为平均值±标准误（mean±SE）。

2 结果与分析

2.1 复合酶制剂对泌乳奶牛瘤胃液 pH、NH_3-N 及 VFA 浓度的影响

由表 2 可知，与对照组相比，试验组I的瘤胃液丁酸浓度显著提高（$P<0.05$）；此外，试验组I的瘤胃液乙酸浓度有提高、NH_3-N 浓度有降低的趋势，但差异不显著（$P>0.05$）。瘤胃液 pH，总挥发性脂肪酸（TVFA）、丙酸浓度以及乙酸/丙酸均未受到复合酶制剂添加量的显著影响（$P>0.05$）。

图 1 为 3 组试验牛采食后 0、2、4、6、8 h 的瘤胃液 pH 和 NH_3-N 浓度的变化趋势。3 组奶牛采食后瘤胃液 pH 变化趋势基本一致，从采食后 0 h 开始逐渐降低，在采食后 6 h 左右达到最低值，之后又逐渐升高。3 组奶牛采食后瘤胃液 NH_3-N 浓度变化趋势液基本一致，在采食后 2 h 达到最高值，之后随时间的变化逐渐降低，直到第 2 次采食后又逐渐升高。

表 2 复合酶制剂对泌乳奶牛瘤胃液 pH、NH_3-N 及 VFA 浓度的影响

Table 2　Effects of compound enzyme preparation on pH and the concentrations of NH_3-N and VFA in rumen fluid of lactating cows

项目 Items	组别 Groups			P 值 *P*-value
	对照组 Control group	试验组I Trial group Ⅰ	试验组II Trial group Ⅱ	
pH	6.53±0.04	6.51±0.06	6.52±0.06	0.75
氨态氮 NH_3-N/（mg/mL）	13.63±0.27	11.97±0.24	12.40±0.19	0.08
乙酸 Acetate/(mmol/L)	58.63±2.09	61.50±1.95	59.60±1.40	0.16
丙酸 Propionate/(mmol/L)	25.57±1.41	25.04±1.38	25.87±1.02	0.67
丁酸 Butyrate/(mmol/L)	10.78±0.47[a]	13.86±0.75[b]	11.01±0.34[ab]	<0.05
乙酸/丙酸 Acetate/propionate	2.29±0.56	2.46±0.63	2.30±0.44	0.13
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	94.99±5.49	100.41±4.89	96.48±2.11	0.39

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著(P＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(P＜0.05)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (P＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P＜0.05). The same as below.

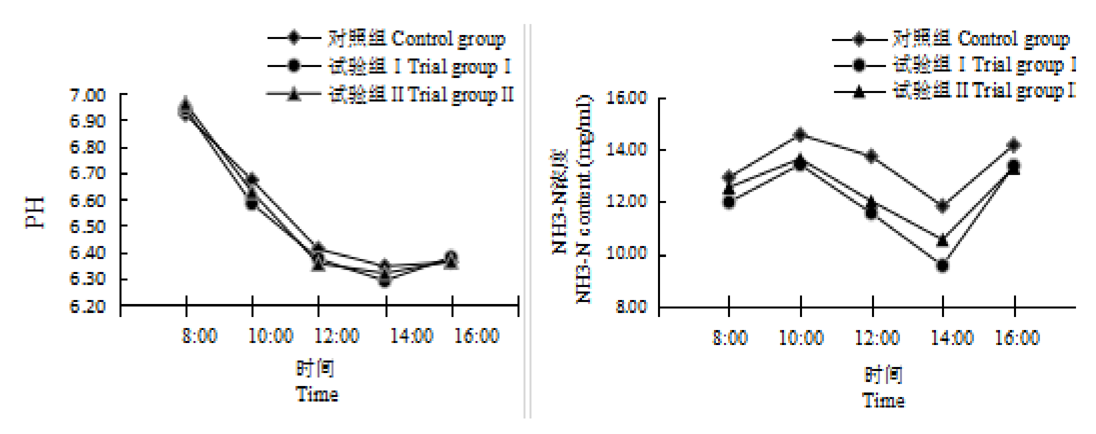


图1 各组泌乳奶牛瘤胃液pH和NH_3-N浓度的变化趋势

Fig.1 changes of rumen fluid pH and NH_3-N concentration of lactating cows in different groups

2.2 复合酶制剂对泌乳奶牛营养物质表观消化率的影响

由表 3 可知，饲粮中添加 10 g/（头·d）复合酶制剂显著提高了奶牛的 DM、CP 和 NDF 表观消化率（P<0.05）；复合酶制剂的添加虽未对 ADF 表观消化率产生显著影响（P>0.05），但有一定的提高作用；试验组 I 与试验组 II 的各营养物质的表观消化率虽然差异不显著（P>0.05），但是在数值上均表现为试验组I高于试验组II。

表 3 复合酶制剂对泌乳奶牛营养物质表观消化率的影响

Table 3 Effects of compound enzyme preparation on nutrient apparent digestibility of lactating cows %

项目 Items	组别 Groups			*P* 值 *P*-value
	对照组 Control group	试验组 I Trial group I	试验组 II Trial group II	
干物质 DM	69.34.±0.04[a]	71.35±0.06[b]	69.96±0.05[ab]	<0.05
粗蛋白质 CP	73.45±0.28[a]	76.12±0.52[b]	75.65±0.19[ab]	<0.05
中性洗涤纤维 NDF	58.08±1.25[a]	62.26±0.86[b]	61.18±1.47[ab]	<0.05
酸性洗涤纤维 ADF	56.12±1.84	58.61±1.54	56.53±1.48	0.06

2.3　复合酶制剂对泌乳奶牛 DMI、产奶量和乳成分的影响

由表 4 可知，各组间奶牛 DMI 无统计学差异（P>0.05），但添加复合酶制剂后显著提高了奶牛的产奶量（P<0.05），且与对照组相比，2 个试验组产奶量提高的幅度基本一致；试验组I与对照组相比除产奶量和乳脂率显著提高（P<0.05）外，4%FCM、乳脂产量和乳糖产量分别提高 4.85、0.49 和 0.32 kg/d，差异显著（P<0.05）；各组间其他乳成分无显著差异（P > 0.05）。

表 4　复合酶制剂对泌乳奶牛 DMI、产奶量和乳成分的影响

Table 4　Effects of compound enzyme preparation on DMI, milk production and milk composition of lactating cows

项目 Items	组别 Groups			P 值 P-value
	对照组 Control group	试验组Ⅰ Trial groupⅠ	试验组Ⅱ Trial group Ⅱ	
干物质采食量 DMI/（kg/d）	23.09±0.76	23.61±0.50	23.62±0.58	0.57
产奶量 Milk yield/(kg/d)	41.27±1.36^{a}	42.21±1.08^{b}	42.24±1.03^{b}	<0.05
4%校正乳产量 4%FCM/(kg/d)	37.92±1.35^{a}	42.77±1.70^{b}	40.57±1.63^{ab}	<0.05
饲料转化效率 Feed efficiency	1.64	1.81	1.72	
乳脂率 Milk fat percentage/%	3.27±0.15^{a}	4.03±0.17^{b}	3.76±0.29^{ab}	<0.05
乳脂产量 Milk fat yield/(kg/d)	1.25±0.10^{a}	1.74±0.12^{b}	1.55±0.14^{ab}	<0.05
乳蛋白率 Milk protein percentage/%	3.15±0.12	3.29±0.10	3.30±0.13	0.40
乳蛋白产量 Milk protein	1.19±0.06	1.34±0.08	1.41±0.08	0.06

yield/(kg/d)				
乳糖率 Lactose percentage/%	4.81±0.12	5.00±0.07	4.86±0.16	0.33
乳糖产量 Lactose yield/(kg/d)	1.82±0.06^{a}	2.14±0.09^{b}	1.96±0.09^{ab}	<0.05
尿素氮 UN/(mg/dL)	16.61±0.79	14.79±1.32	15.70±1.52	0.34
体细胞数 Somatic cell count /(×10^3 mL^{-1})	37.78±6.98	35.88±6.56	38.13±6.67	0.75

2.4 复合酶制剂对泌乳奶牛血清指标的影响

由表 5 可知，饲粮中添加复合酶制剂有提高血清游离脂肪酸、β-羟丁酸含量的趋势，但未达到统计学差异（*P*>0.05）；血清中其他指标也未受复合酶制剂添加量的显著影响（*P*>0.05）。这说明外源酶制剂不会对奶牛的健康状况产生显著影响。

表 5 复合酶制剂对泌乳奶牛血清指标的影响

Table 5 Effects of compound enzyme preparation on serum indexes of lactating cows

项目 Items	组别 Groups			*P* 值 *P*-value
	对照组 Control group	试验组Ⅰ Trial group Ⅰ	试验组Ⅱ Trial group Ⅱ	
葡萄糖 GLU/(mmol/l)	4.93±0.17	4.98±0.14	4.86±0.08	0.36
总蛋白 TP/(g/L)	75.22±1.86	74.78±1.87	73.33±2.31	0.54
白蛋白 ALB/(g/L)	35.56±0.56	34.78±0.94	35.11±0.31	0.48
球蛋白 GLB/(g/L)	39.66±0.60	40.00±0.84	38.22±0.41	0.32
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.55±0.02	0.53±0.04	0.51±0.02	0.26
游离脂肪酸 FFA/(μmol/mL)	71.05±13.32	97.78±22.51	93.81±25.71	0.41
β-羟丁酸 BHBA/(mmol/L)	0.63±0.87	0.84±0.19	0.81±0.17	0.38

总胆固醇 TC/(mmol/L)	8.87±0.78	8.97±0.58	8.76±0.70	0.84
尿素氮 UN/(mmol/L)	5.78±0.37	5.88±0.26	5.89±0.29	0.82

3 讨 论

3.1 复合酶制剂对泌乳奶牛瘤胃发酵的影响

瘤胃液 pH 是一项反映瘤胃发酵状态的重要指标，通常在一定范围内波动，冯仰廉[12]认为瘤胃液 pH 的一般范围是 6.0~7.0。本试验发现添加复合酶制剂的试验组与未添加复合酶制剂的对照组瘤胃液 pH 变化波动都较小，且 pH 均在合理范围之内。研究发现影响瘤胃液 pH 的根本原因是饲粮的结构与营养水平[13]，本试验各组全期采用同一 TMR 饲喂，故不会对瘤胃液 pH 产生显著影响。

碳水化合物经瘤胃微生物发酵产生的大量 VFA 是反映瘤胃健康状况的一个重要指标，为反刍动物提供 70%~80%的能量需要。乙酸、丙酸和丁酸浓度占瘤胃液 TVFA 浓度的 95%左右，其中丙酸是葡萄糖糖异生的主要前体物质，而乙酸与葡萄糖对于奶牛乳脂的合成具有很大的相互依赖性[14]。Arriola 等[15]报道，饲粮中添加纤维分解酶可提高瘤胃液 TVFA 浓度，但乙酸/丙酸降低。Chung 等[16]在饲粮中添加以纤维分解酶为主的复合酶制剂，结果发现奶牛瘤胃液 TVFA、NH_3-N 浓度及 pH 均无显著改变。李艳玲等[17]通过体外产气试验发现，添加以纤维素酶、木聚糖酶为主的复合酶制剂后，除异戊酸外，发酵液中 TVFA 浓度、乙酸/丙酸各组间差异不显著。而本试验结果发现，除添加 10 g/（头 d）复合酶制剂时瘤胃液丁酸浓度显著提高外，复合酶制剂的添加对瘤胃液中其他 VFA 的浓度并未产生显著影响。瘤胃液中的丁酸主要是乙酸在微生物作用下经脂肪酸 β 氧化逆反应合成的，且受其他因素影响较小。本研究发现，2 个试验组的瘤胃液中乙酸浓度在一定程度上较对照组有所增加，故推测可能是乙酸浓度的提高促进脂肪酸的 β 氧化逆反应合成丁酸，导致瘤胃液中丁酸浓度随之增加，具体原因有待进一步研究。

瘤胃微生物的生长需要一个适应的 NH_3-N 浓度，研究指出瘤胃微生物对氨氮的耐受范

围是 6~30 mg/dL。瘤胃液中的 NH_3-N 浓度主要由蛋白质在瘤胃中的降解程度和瘤胃微生物对氨的利用速率来共同决定。本试验中 3 组奶牛瘤胃液中 NH_3-N 浓度均在正常范围之内，且变化趋势基本一致，在数值上 2 个添加量的复合酶制剂均有降低瘤胃液 NH_3-N 浓度的趋势，这可能是因为复合酶制剂提高了瘤胃微生物对氨的利用速率。李艳玲等[17]也发现，发酵液中 NH_3-N 的浓度在数值上有所降低，推测微生物对 NH_3-N 的利用有所增加，与本试验结果一致。

3.2 复合酶制剂对泌乳奶牛营养物质表观消化率的影响

最初部分研究学者认为在饲粮中添加以纤维素酶为主的外源复合酶制剂在瘤胃内会受蛋白质分解菌的破坏而失活。研究结果证实，外源酶制剂能够在瘤胃中稳定存在[18-19]。另有研究报道，外源复合酶制剂在瘤胃中的稳定特性可能和酶的糖基化有关，一些瘤胃内特殊微生物区系产生的酶即使没有糖基化也可以阻止瘤胃液对外源酶制剂的水解作用[20]。因此，大部分研究发现添加复合酶制剂对饲料消化程度的改善是积极的[21-24]。

正常情况下，外源酶制剂的添加仅为瘤胃微生物酶的一小部分，因此很难说明瘤胃内纤维等营养物质消化的改善是外源酶的直接作用，故部分研究推测外源复合酶可能通过与内源酶协作[25]，亦或是提高微生物对饲料颗粒的附着而发挥作用[18]。另有研究发现添加外源酶制剂后绵羊和奶牛瘤胃内纤维分解菌的数量显著增加，故认为瘤胃内微生物数量的改变是外源酶制剂对反刍动物发挥积极作用的潜在模式[26-27]。本试验结果表明，饲粮中添加 10 g/（头 d）复合酶制剂的奶牛的 DM、CP 和 NDF 表观消化率显著提高，同时对 ADF 的消化也有一定的促进作用；饲粮中添加 20 g/（头 d）复合酶制剂的奶牛的各营养物质表观消化率也得到了改善。这可能是由于复合酶制剂中纤维素酶、木聚糖酶、葡聚糖酶和果胶酶各酶系之间存在协同作用，能最大限度地降低饲料黏度、破坏植物细胞壁，尤其是纤维素、木聚糖、果胶等非淀粉多糖物质，可提高饲料在瘤胃发酵的营养价值，使营养物质释放出来，便于动物的消化吸收，并使 NDF 的消化率提高，从而导致动物对饲料整体的消化力也随之提

高。这也就解释了为什么在添加以纤维素酶为主的复合酶制剂时能够同时提高纤维以及非纤维组分的消化率这一问题。然而，过量添加外源酶制剂可能会和瘤胃微生物竞争饲料的结合位点，反而不利于内源酶对饲料的附着、消化等。本试验中复合酶制剂添加量为 20 g/（头 d）时并没有添加量为 10 g/（头 d）时效果好。因此，外源酶制剂如果要在动物体内发挥好的效果，很有必要考虑其添加量是否是在合理的范围内。

3.3　复合酶制剂对泌乳奶牛生产性能的影响

合理添加复合酶制剂能够不同程度地提高动物生产性能的结论已得到国内外研究者的证实，但其对奶牛产奶量及乳成分影响效果的报道却并不一致。Yang 等[21]在苜蓿草块饲粮中添加主要含纤维素酶和木聚糖酶的复合酶制剂，发现随复合酶制剂添加量的增加，产奶量显著提高，且提高的幅度与复合酶制剂的添加量有关，但对乳成分的影响较小。Bowman 等[28]以及 Eun 等[29]研究却发现复合酶制剂对乳脂率和乳蛋白率的提高具有积极作用。近些年来，国内的一些研究学者也发现奶牛饲粮中添加不同剂量的复合酶制剂，能不同程度地提高产奶量，但对乳成分的影响不显著。杜忍让[30]在奶牛精料中添加 4 种不同添加量的复合酶制剂，奶牛产奶量得到提高，但对乳成分的影响不显著。刘云波等[31]在以青贮玉米和小麦秸为主的基础饲粮中添加复合酶制剂，同时提高了奶牛的产奶量和乳脂率。王超丽等[32]在 TMR 基础上添加 30 g/（头 d）的复合酶制剂，奶牛的产奶量得到显著提高，但对乳成分的影响不大。复合酶制剂在实际应用中受到多方面因素的影响，如复合酶制剂的种类、添加量、添加方式等，导致其结果往往很不稳定。

本试验研究发现复合酶制剂的添加并未对奶牛的 DMI 产生显著影响，但添加复合酶制剂后奶牛的产奶量显著提高，其中 10 g/（头 d）组奶牛的 4%FCM、乳脂率、乳脂产量和乳糖产量均显著提高，这与周小娟等[33]和杜瑞平等[34]的试验结果一致。DMI 主要受动物个体、环境、饲粮变化等多种因素影响[35]。本试验中各组奶牛均采用同一 TMR 饲喂，动物个体和试验环境基本一致，故 DMI 并无显著差异。但由于复合酶制剂改善了奶牛的瘤胃发酵，提

高了对营养物质的整体消化利用，饲料转化效率得到提高，故奶牛的产奶量得到提高，乳成分因此也得到一定的改善。

3.4　复合酶制剂对泌乳奶牛血清指标的影响

血清指标通常用来估测奶牛的健康和代谢状况。血清中葡萄糖的含量反映了动物机体对糖的吸收、转运和代谢的动态平衡状态，血清中葡萄糖的含量通常情况下保持恒定值。奶牛血清中正常的总蛋白含量为 62~82 g/L，白蛋白含量为 28~39 g/L，一般来说，白蛋白与总蛋白含量增高和降低的趋势基本上是相同的[36]。血液中的尿素氮来自于机体组织蛋白质的分解以及瘤胃壁吸收的氨氮，是机体内蛋白质代谢的终产物，其含量通常比较稳定，受进食氮、同时也受机体内源氮分泌的影响。本研究发现血清中葡萄糖、总蛋白、白蛋白和尿素氮含量各组间无显著差异，这可能是由于反刍动物本身具有较强的自身调节能力，导致这些指标差异不显著。李逵等[37]研究发现，饲粮中添加复合酶制剂对安格斯肉牛血清中葡萄糖、总蛋白、白蛋白、尿素氮含量有一定影响，但未达到统计学差异，这与本试验结果一致。

来源于脂肪组织中甘油三酯动员与脂解的游离脂肪酸，广泛参与机体代谢循环，因此其含量时刻在发生着变化。β-羟丁酸主要是由游离脂肪酸在肝脏中氧化合成以及经瘤胃吸收的丁酸转化而来[38-39]，反刍动物可利用 β-羟丁酸作为乳脂合成的部分前体物。本试验研究发现，复合酶制剂的添加在不同程度上提高了奶牛血清中游离脂肪酸和 β-羟丁酸的含量，表明奶牛体脂动员增加。此外，本试验发现复合酶制剂的增加了瘤胃液中丁酸的浓度，丁酸在经瘤胃网壁吸收的过程中大部分转化为作为乳脂合成的前体物质 β-羟丁酸，这也进一步证实了复合酶制剂提高奶牛乳脂率的巨大潜力。

4　结　论

饲粮中添加 10 g/（头 d）复合酶制剂可显著提高泌乳奶牛对 NDF、CP 和 DM 的表观消化率，对 ADF 的消化也有一定的促进作用，从而显著提高奶牛的产奶量，改善乳成分，且效果优于添加量为 20 g/（头 d）时。综合考虑，泌乳奶牛饲粮中复合酶制剂的推荐添加

量为 10 g/（头 d）。

参考文献：

[1] 付水广,王自蕊,游金明,等.复合酶制剂对断奶仔猪生长性能和养分消化率的影响研究[J].饲料工业,2010,31(7):40–42.

[2] 孙肖明,杜德伟,孟宪梅.复合酶制剂在生长育肥猪生产中的应用[J].吉林工商学院学报,2012,28(2):107–109.

[3] 何宴芳.复合酶制剂的作用机理及其在肉鸡生产中的应用[J].中兽医学杂志,2015(11):12–13.

[4] 张芹.复合酶制剂对肉鸡生产性能及血液生化指标的影响[J].安徽农业科学,2012,40(17):9285–9287.

[5] 解祥学,杜红芳,陈书琴,等.外源酶制剂在反刍动物上的应用与展望[J].动物营养学报,2016,28(4):1011–1019.

[6] 高民,卢德勋.酶制剂在反刍动物中的应用[J].中国饲料,2004(20):5–7.

[7] 刘瑞玲,李克广.活性复合酶制剂在奶牛生产中的应用[J].畜牧兽医杂志,2012,31(4):51–53.

[8] 王红云,高占峰,付才.外源酶制剂在反刍动物上的应用[J].饲料工业,2006,27(2):23–25.

[9] 刘瑞玲,王香祖.复合酶制剂在奶牛生产中的研究[J].饲料博览,2016(8):6–8.

[10] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].3 版.北京:中国农业大学出版社,2007:67–68.

[11] ZHONG R Z,LI J G,GAO Y X,et al.Effects of Substitution of different levels of steam-flaked corn for finely ground corn on lactation and digestion in Early Lactation Dairy Cows[J].Journal of Dairy Science,2008,91(10):3931–3937.

[12] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004:138–141.

[13] 王庆丽,田兰英,赵仁义,等.影响奶牛瘤胃 pH 值的因素[J].河南畜牧兽医:综合版,2008,29(19):36–37.

[14] 郝志敏,王景,朱靓婧,等.乙酸/丙酸比例对瘤胃微生物体外发酵和蛋白质产量的影响[J].广东饲料,2011,20(8):20–24.

[15] ARRIOLA K G,KIM S C,STAPLES C R,et al.Effect of fibrolytic enzyme application to Low and high-concetrate dites on the performance of lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2011,94(2):832–841.

[16] CHUNG Y H,ZHOU M，HOLTSHAUAEN L,et al.A fibrolytic enzyme additive for lactating holstein cow diets:ruminal fermentation,rumen microbial populations,and enteric methane emissions[J].Journal of Dairy Science,2011,95(3):1419–1427.

[17] 李艳玲,张民,柴建民,等.外源性复合酶制剂对体外瘤胃发酵及奶牛产奶性能的影响[J].动物营养学报,2015,27(9):2911–2919.

[18] MORGAVI D P,NEWBOLD C J,BEEVER D E,et al.Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid[J].Enzyme and Microbial Technology,2000,26(2/3/4):171–177.

[19] 张芹,毛胜勇,朱伟云.外源酶在反刍动物生产中的应用及作用机制[J].畜牧与兽医,2007,39(5):55–58.

[20] FONTES C M G A,HALL J,HIRST B H,et al.The resistance of cellulases and xylanases to proteolytic inactivation[J].Applied Microbiology and Biotechnology,1995,43(1):52–57.

[21] YANG W Z,BEAUCHEMIN K A,RODE L M.Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,1999,82(2):391–403.

[22] ÁLVAREZA G,PINOS-RODRÍGUZEA J M,HERRERA J G,et al.Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations[J].Livestock Science,2009,121(2/3):150–154.

[23] 徐学文,刘正亚,田雯,等.不同复合酶制剂对奶牛生产性能和营养物质消化率的影响[J].粮食与饲料工业,2012,12(11):51–54.

[24] 王照忠,尚有安.纤维素复合酶对奶牛消化率影响的效果分析[J].养殖与饲料,2008(5):61–62.

[25] 刘大森,鞠涛,杨方,等.纤维素酶在反刍动物饲料中的应用研究进展[J].东北农业大学学报,2011,42(6):7–11.

[26] GIRALDO L A,TEJIDO M L,RANILLA M J,et al.Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet[J].Journal of Animal Science,2008,86(7):1617–1623.

[27] NSEREKO V L,BEAUCHEMIN K A,MORGAVI D P,et al.Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows[J].Canadian Journal of Microbiology,2002,48(1):14–20.

[28] BOWMAN G R,BEAUCHEMIN K A,SHELFORD J A.The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2002,85(12):3420–3429.

[29] EUN J S,BEAUCHEMIN K A.Effects of a proteolytic feed enzyme on intake,digestion,Ruminal fermentation,and milk production[J].Journal of Dairy Science,2005,88(6):2140–2153.

[30] 杜忍让.日粮酶制剂水平对奶牛产奶量及其成分影响的研究[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2007:22–28.

[31] 刘云波,李常胜,江舒.复合酶制剂对奶牛产奶性能的影响[J].饲料研究,2002(11):33–34.

[32] 王超丽,王树杰,许存柱,等.反刍动物专用复合酶对奶牛生产性能的影响[J].中国奶牛,2015(16):14–17.

[33] 周小娟,白跃宇,梁旭,等.复合酶对奶牛产奶量和乳成分的影响[J].中国奶牛,2014(1):5–7.

[34] 杜瑞平,段智勇,劳晔,等.复合酶制剂对奶牛产奶量和乳品质的影响[J].饲料工业,2008,29(17):41–43.

[35] 吴秋珏,徐廷生,黄定洲.影响反刍动物干物质采食量的因素[J].饲料与畜牧,2006(12):31–34.

[36] 王俊东,刘宗平.兽医临床诊断学[M].北京:中国农业出版社,2004.

[37] 李逵,杨亮,张文举,等.复合酶制剂对安格斯肉牛生产性能和血清生化指标的影响[J].饲料博览,2016(4):5–8.

[38] ROCHE J R,SHEAHAN A J,CHAGAS L M,et al.Short communication:change in plasma ghrelin in dairy cows following an intravenous glucose challenge[J].Journal of Dairy Science,2008,91(3):1005–1010.

[39] ANDERSSON L,LUNDSTRÖM K.Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows[J].Zentralblatt Für Veterinärmedizin,1985,32(1/2/3/4/5/6/7/8/9/10):15–23.

Effects of Compound Enzyme Preparation on Rumen Fermentation, Nutrient Apparent Digestibility and Performance of Lactating Cows

LIN Jing[1,2] ZHAO Xinyuan[2] DU Wen[2] WANG Yajing[2] CAO Zhijun[2] LI Shengli [2*] YU Xiong[1*]

(1. *College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University*, *Urumchi* 830052, *China*; 2. *State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing Engineering Technology Research Center of Raw*

---

*Corresponding authors: LI Shengli, professor, E-mail: lishenglicau@163.com; YU Xiong, professor, E-mail: yuxiong8763601@126.com (责任编辑 菅景颖)

Milk Quality and Safety Control, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, *China)*

Abstract: The object of this experiment was conducted to study the effects of adding different doses of compound enzyme preparation in the diet on rumen fermentation, nutrient apparent digestibility, serum indexes and performance of lactating cows. Nine Holstein lactating cows were selected with similar body weight, parity [(2.30±0.06) parities], milk yield[(36.00±0.03) kg/d] and lactation days[（90.00±0.15） d] and were randomly allocated to 3 groups with 3 lactating cows in each group. The 3×3 Latin square design was used in this experiment. Dairy cows in control group were fed a basal diet, while those in trial groups Ⅰ and Ⅱ were fed the basal diet added with 10 and 20 g/(head·d) compound enzyme preparation, respectively. The animal experiment was divided into 3 phases, and each phase lasted for 21 days with 14 days for adaptation and 7 days for sampling. The results showed as follows: 1) adding 10 g/(head·d) compound enzyme preparation in the diet could significantly increase rumen fluid butyrate concentration of dairy cows (P<0.05), but had no significant effects on rumen fluid total volatile fatty acid and other volatile fatty acid concentrations (P>0.05). 2) Compared with the control group, adding 10 g/(head·d) compound enzyme preparation in the diet could significantly increase the apparent digestibility of dry matter, crude protein and neutral detergent fiber (P<0.05), also had a certain role in promoting the digestion of acid detergent fiber (P=0.06). 3) Compared with the control group, adding 10 and 20 g/(head·d) compound enzyme preparation in the diet could significantly increase milk yield (P<0.05), and the 4% fat correction milk production, milk fat yield, lactose yield in 10 g/(head·d) group were increased by 4.85 (P<0.05), 0.49 (P<0.05) and 0.32 kg/d (P<0.05), respectively. 4) There was no significant effects of adding compound enzyme preparation on serum indexes of dairy cows (P>0.05). In conclusion, adding 10 g/(head·d) compound enzyme preparation in the diet can improve milk yield, milk fat yield and the concentration of rumen fluid butyrate, and the feeding effect is better than 20 g/(head·d). Comprehensive consideration, the recommended adding dose of compound enzyme preparation in the diet of lactating cows is 10 g/(head·d).

Key words: compound enzyme preparation; lactating cow; rumen fermentation; nutrient apparent digestibility; performance